

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

ГОРМОНАЛЬНІ ТА РЕПРОДУКТИВНІ РОЗЛАДИ У САМЦІВ ЩУРІВ ВНАСЛІДОК НАДМІРНОГО СПОЖИВАННЯ РАФІНОВАНОЇ СОНЯШНИКОВОЇ ОЛІЇ*

Антіпова Р. В.¹, Комісова Т. Є.¹, Величко Н. Ф.², Сак А. Є.³

¹ Харківський національний педагогічний університет ім. Г. С. Сковороди,
м. Харків, Україна;

² ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського НАМН України»,
м. Харків, Україна;

³ Харківська державна академія фізичної культури, м. Харків, Україна
antipowaraja@i.ua

Характер зміни демографічних показників ставить проблему безплідного шлюбу в ряд найбільш важливих в сучасній медицині практично у всіх регіонах України. Безплідний шлюб набуває не тільки медико-біологічного, а й соціального значення. У цю сумну статистику вносить свій вклад зростання частоти чоловічого безпліддя, яка дорівнює жіночому [1]. Сучасні чоловіки, зазвичай, завжди знаходяться в інтенсивному ритмі життя, що сприяє незбалансованому харчуванню, переїданню та, як наслідок, розвитку захворювань. В останні роки у зв'язку із постійним зростанням споживання соняшникової олії у світі активно досліджується її вплив на репродуктивну функцію, фізіологічні процеси запліднення. На сьогодні питання користі та шкоди

щоденного вживання соняшникової олії є відкритим. Оскільки пов'язано це з якістю продукту, виготовленою під різними торговими марками. Тобто, остаточний хімічний склад продукту має важливе біологічне значення [2]. Основною складовою соняшникової олії є жирні кислоти. Причому, вміст омега-6-ненасичених жирних кислот переважає над концентрацією омега-3 [3]. І ця перевага має суттєвий вплив на повноцінний перебіг біохімічних процесів, функціонування організму та репродуктивної системи, зокрема. Оптимальне співвідношення у добовому раціоні омега-6 та омега-3 має становити 5-10 : 1 [4]. В той час як у соняшниковій олії це співвідношення становить 126 : 1 [5]. Взаємодія омега-3 і омега-6 жирних кислот та їхніх ліпідних

* Роботу виконано в Харківському національному педагогічному університеті ім. Г. С. Сковороди. Дослідження є фрагментом НДР «Вплив факторів навколишнього середовища на морфо-функціональний стан організму в онтогенезі», номер державної реєстрації 0119UOC2219.

Установою, що фінансує дослідження, є МОН України.

Автори гарантують повну відповідальність за все, що опубліковано в статті.

Автори гарантують відсутність конфлікту інтересів і власної фінансової зацікавленості при виконанні роботи та написанні статті.

Рукопис надійшов до редакції 20.03.2020.

медіаторів є складним і до сьогодні не зовсім зрозумілим процесом. [6]. Було показано, що баланс між омега-6 та омега-3 кислотами під час перинатального розвитку впливає на метаболічні параметри у дорослому віці, особливо у самців [7]. Адже ці кислоти конкурують за одні і ті ж ферментні системи. Надлишок омега-6 та недостатність омега-3 в раціоні може провокувати розвиток запальних захворювань: від ревматизму до онкології та безпліддя [8, 9]. Питання протилежного внеску омега-3 та омега-6 у розвиток патологій також залишається відкритим [10]. Так, було досліджено вплив 10 % дефіциту в соняшниковій олії α -ленолоенової кислоти, що відноситься до омега-3 кислот, на репродукцію та постнатальне зростання у щурів впродовж трьох поколінь. Це дослідження показало погіршення плідності, фертильності, післяродового росту до третього дня у нащадків, збільшення перинатальної та післянатальної смертності [11]. Також, від типу жирів, що входять до раціону харчування може

залежати вміст жирних кислот у сперматозоїдах, фізичні характеристики сперматичних клітин та коефіцієнт фертильності [12]. Адже жирні кислоти є основними складовими фосфоліпідів, що формують ліпосоми та біологічні мембрани усіх клітин (ліпідний бішар). Вони забезпечують плинні і пластичні властивості клітинних мембран і її органел.

Таким чином, зважаючи на фізіологічну значущість поліненасичених жирних кислот (ПЖК) у функціонуванні організму та постійно зростаюче споживання соняшникової олії у світі та Україні, виникає необхідність проведення ретельних науково-експериментальних досліджень впливу олії (та її жирів) на репродуктивний стан організму людини при її тривалому та/або надмірному вживанні [13].

Метою роботи було встановлення наслідків хронічного і надмірного споживання рафінованої соняшникової олії для гормонального стану та репродуктивної функції у статевозрілих самців щурів.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Експеримент проводили відповідно «Загальноетичних принципів експериментів на тваринах» [14]. Самці щурів популяції Wistar віком 7-ми місяців були рандомізовані на групи: «Рафінована олія», «Контроль». До стандартного раціону піддослідних тварин впродовж 75 діб додавали рафіновану соняшникову олію вітчизняного виробництва у розрахунку 3 г/кг маси, що перевищувало добову норму жирів у 1,5 рази. Контрольною групою були інтактні самці, які утримувалися на стандартному раціоні віварію. Тварин виводили з експерименту шляхом швидкої декапітації. Далі оцінювали стан репродуктивної функції за показниками сперматогенезу в суспензії епидидимальних сперматозоїдів. У крові за допомогою тест-наборів для імунофермент-

ного аналізу визначали рівень статевих гормонів: естрадіолу (E_2), загального тестостерону (Тс), вільного Тс. Розраховували показник відносної андрогенізації/естрогенізації організму Tc/E_2 . Для цього знаходили середнє значення для двох паралельних проб, а потім розраховували середній показник у групі (для Тс та E_2). Отримані результати обробляли за допомогою пакету аналізу програм Excel 2003 та Statistika 10.0. Визначення виду розподілу ознаки у виборці проводили з використанням критерію W Шапіро–Уїлка. У разі відповідності розподілу закону нормального розподілу, дані представлені у вигляді середнього арифметичного (\bar{x}) та його похибки ($\pm S_x$). Перевірка нульової гіпотези проводилась із застосуванням непараметричних методів [15].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Створені умови експерименту у піддослідних самців призвели до андрогенного дефіциту та гіперестрогенії за показниками статевих гормонів у крові. Було виявлено зниження концентрації загального Тс

у 2,2 рази та вільного Тс у 2,3 рази. Рівень E_2 був на 27 % вищим ($p \leq 0,05$) (табл. 1).

Розрахунок співвідношення Tc/E_2 показав, що у піддослідних тварин воно зменшилось: із загальним Тс по відношенню

Таблиця 1

Рівні статевих гормонів у піддослідних самців щурів,
($X \pm S_x$), $n = 7$

Показник	Група	
	Інтактний контроль	«Рафінована олія»
Тс загальний, нмоль/л	$6,06 \pm 0,09$	$2,76 \pm 0,07^*$
Тс вільний, пмоль/л	$21,43 \pm 3,80$	$9,29 \pm 0,70^*$
Естрадіол, пмоль/л	$106,61 \pm 3,06$	$134,96 \pm 10,8^*$
Загальний Тс/ $E_2 \cdot 10^{-2}$	$6,81 \pm 0,81$	$1,98 \pm 0,48^*$
Вільний Тс/ $E_2 \cdot 10^{-2}$	$17,83 \pm 2,41$	$6,93 \pm 0,94^*$

Примітка.

* $p \leq 0,05$ — порівняно з самцями групи «Інтактний контроль».

Таблиця 2

Показники спермограми самців щурів, ($X \pm S_x$), $n = 7$

Показник	Група	
	Інтактний контроль	«Рафінована олія»
Концентрація, млн/мл	$50,71 \pm 3,31$	$33,43 \pm 3,24^*$
Рухливість, %	$81,29 \pm 2,64$	$84,14 \pm 2,91$
Патологічні форми, %	$5,14 \pm 0,96$	$8,29 \pm 0,92^*$
Концентрація морфологічно нормальних сперматозоїдів, млн/мл	$48,16 \pm 3,26$	$30,71 \pm 3,05^*$

Примітка.

* $p \leq 0,05$ — порівняно з самцями групи «Інтактний контроль».

до E_2 у 3,4 рази, а із вільним Тс — у 2,7 рази, ($p \leq 0,05$). Це вказує на порушення балансу статевих гормонів та підтверджується відповідним їх рівнем у піддослідних тварин, а опосередковано це може вказувати на підвищену активність ароматази. Незбалансованість соняшникової олії за вмістом ПЖК, особливо пальмітинової (ПК) також може слугувати фактором виникнення гормональної дисфункції [7]. Адже саме із ПК по шляху кераміду синтезується сфінгомелін, що є основним компонентом мембранних рафтів, які приймають участь в координації клітинних процесів. Шлях синтезу кераміду із ПК призводить до оксидативного апоптозу, тобто утворення АФК та розвитку оксидативного стресу. У свою чергу, це може призводити до поступового згасання репродуктивної функції, що обумовлено зниженням функціональної активності рецепторів до відповідних гормонів, які контролюють її діяльність [16]. Тобто, надмірне споживання соняшникової

олії, що є не збалансованою за вмістом омега-3 та омега-6, призвело до порушення обміну андрогенів та домінування E_2 . Варто зазначити, що недостатність омега-3 в організмі призводить до огрубіння мембран усіх клітин, у тому числі сперматозоїдів. Це негативно позначається на запліднюючій здатності гамет, а при вдалому заплідненні — на життєздатності ембріонів [17].

Аналіз показників спермограми суспензії епідидимальних спермій у піддослідних самців виявив зміни загальної концентрації гамет, яка була меншою на 34% ($p \leq 0,05$) (табл. 2). Спостерігалось збільшення на 61% частки патологічних форм та зменшення на 36% кількості морфологічно нормальних сперматозоїдів (див. табл. 2), ($p \leq 0,05$).

Сперматогенна функція сім'яників пов'язана з відповідним вмістом андрогенів та Тс, зокрема, який є провідним гормоном сперматогенезу. У піддослідних щурів рівень Тс був набагато меншим, ніж у ін-

тактичних самців. Тому, зменшення загальної концентрації сперматозоїдів може бути пов'язано з андрогенною недостатністю. Це узгоджується з даними літератури про порушення сперматогенезу у випадках його андроген-залежних стадій [18].

Зміна спрямованості гормональних процесів могла позначитись на сперміогенезі. Це обумовило появу значної кількості аномальних спермій, що зменшило концентрацію морфологічно нормальних гамет. Виявлений надфізіологічний вміст E_2 у крові на тлі андрогенного дефіциту є загрозливим чинником для нормального розвитку сперматидних клітин, що у самців цієї групи проявляється у погіршенні пара-

метрів спермограми. Також появи патологічних форм гамет могло сприяти незбалансоване надходження омега-3/омега-6 жирних кислот із соняшниковою олією. Адже ліпіди можуть впливати на параметри сперми, особливо на морфологію голівки, структурну цілісність клітинної мембрани [19]. Показано, що безплідні чоловіки мають більш низькі концентрації омега-3 в сперматозоїдах, ніж фертильні. Тому дослідження впливу омега-3/омега-6 із соняшникової олії є вкрай важливим для визначення їхньої ролі у процесах запліднення та розвитку фертильності/гіпофертильності у чоловіків [20].

ВИСНОВКИ

1. Надмірне та хронічне споживання рафінованої соняшникової олії призводить до гормональних розладів та порушення сперматогенезу.
2. Внаслідок створених експериментальних умов у піддослідних тварин виникає андрогенний дефіцит (зниження вмісту вільного і загального Тс), гіперестрогенія, порушення фізіологічного співвід-

ношення статевих гормонів (показника андрогенізації/естрогенізації).

3. Гормональні розлади у експериментальних тварин супроводжуються дефектами процесів сперматогенезу: зниження загальної концентрації та морфологічно нормальних гамет, підвищенням відсотку патологічних форм.

ЛІТЕРАТУРА (REFERENCES)

1. Khlyakina OV. *Bull TSU* 2011; 16(1): 356-359.
2. Obukhova LA. Vegetable oils in nutrition. Comparative analysis, available at : <https://www.argo-shop.com.ua/>
3. Pilipenko TV, Astafyeva VV, Stepanova NYu. *News of St. Petersburg State Agrarian University* 2015; 3(56): 90-97.
4. Norms of physiological requirements for energy and nutrients for various groups of the population of the Russian Federation, *Moskva* : Federal center for sanitary inspection of the ministry of health of Russia, 2008: 43 p.
5. Zanini SF, Torres CA, Bragagnolo N, et al. *Arch Tierernahr* 2003; 57(6): 429-442. doi: 10.1080/0003942032000161072.
6. Innes JK, Calder PC. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2018; 32:41-48. doi: 10.1016/j.plefa.2018.03.004.
7. Korotkova M, Gabrielsson BG, Holmång A, et al. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2005; 288(3): 575-579. doi: 10.1152/ajpregu.00342.2004.
8. Traber MG, Buettner GR, Bruno RS. *Redox Biol* 2019; 21: 101091. doi: 10.1016/j.redox.2018.101091.
9. Loo TM, et al. *Cancer Discov* 2017; 7: 522-538. doi: 10.1158/2159-8290.CD-16-0932.
10. Kaliannan K. *Commun Biol* 2019; 2(1): Art 276. doi: 10.1038/s42003-019-0521-4.
11. Araya J, Cagalj AI. *Arch Latinoam Nutr* 1993; 43(2): 123-131.
12. Esmaeili V, Shahverdi AH, Moghadasian MH, et al. *Andrology* 2015; 3(3): 450-461. doi: 10.1111/andr.12024.
13. Makarova SG, Vishneva EA. *Pediatric Pharmacol* 2013; 10(4): 80-88.
14. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. European Treaty Series, *Strasbourg*, 1986; 123: 1-11.
15. Glans S. *Mediko-biologicheskaja statistika, Moskva*, 1998: 459 p.
16. Mukherjee R, Choi JW, Choi DK. *Cell Physiol Biochem* 2012; 29(3-4): 617-634. doi: 10.1159/000338515.
17. Martinez-Soto JC, Landeras J, Gadea J. *Andrology* 2013; 1(3): 365-375. doi: 10.1111/j.2047-2927.2012.00040.x.
18. Behre HM, Bergmann M, Simoni M, Tüttelmann F. Primary testicular failure, available at : www.endotext.org.
19. Schisterman EF. *Andrology* 2014; 2(3): 408-415. doi: 10.1111/j.2047-2927.2014.00198.x.
20. Safarinejad MR. *Clin Nutr* 2010; 29(1): 100-105. doi: 10.1016/j.clnu.2009.07.008.

ГОРМОНАЛЬНІ ТА РЕПРОДУКТИВНІ РОЗЛАДИ У САМЦІВ ЩУРІВ ВНАСЛІДОК НАДМІРНОГО СПОЖИВАННЯ РАФІНОВАНОЇ СОНЯШНИКОВОЇ ОЛІЇ

Антіпова Р. В.¹, Комісова Т. Є.¹, Величко Н. Ф.², Сак А. Є.³

¹ Харківський національний педагогічний університет ім. Г. С. Сковороди,
м. Харків, Україна;

² ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського НАМН України»,
м. Харків, Україна;

³ Харківська державна академія фізичної культури, м. Харків, Україна
antipowaraja@i.ua

Вступ. На сьогодні залишається актуальним завданням пошук причин зниження фертильності чоловіків. Однією з них може бути незбалансованість харчування по таким нутрієнтам як поліненасичені жирні кислоти (омега-3 та омега-6), що є основною складовою соняшникової олії.

Мета роботи — встановити наслідки хронічного і надмірного споживання рафінованої соняшникової олії для гормонального стану та репродуктивної функції у статевозрілих самців щурів.

Результати. У експериментальних 7-ми місячних самців щурів доповнення стандартного раціону рафінованою соняшниковою олією у дозі 3 г/кг маси (перевищення норми жирів у 1,5 рази) впродовж 75 днів призвело до андрогенного дефіциту (зниження вмісту вільного і загального тестостерону), гіперестрогенії, порушення фізіологічного співвідношення статевих гормонів. Гормональні розлади супроводжувалися дефектами сперматогенезу: зниженням загальної концентрації гамет, морфологічно нормальних форм, підвищенням відсотку кількості патологічних форм.

Ключові слова: чоловіча гіпофертильність, соняшникова олія, сперматогенез, статеві гормони.

ГОРМОНАЛЬНЫЕ И РЕПРОДУКТИВНЫЕ НАРУШЕНИЯ У САМЦОВ КРЫС ВСЛЕДСТВИЕ ИЗБЫТОЧНОГО ПОТРЕБЛЕНИЯ РАФИНИРОВАННОГО ПОДСОЛНЕЧНОГО МАСЛА

Антипова Р. В.¹, Комисова Т. Е.¹, Величко Н. Ф.², Сак А. Е.³

¹ Харьковский национальный педагогический университет им. Г. С. Сковороды,
г. Харьков, Украина;

² ГУ «Институт проблем эндокринной патологии им. В. Я. Данилевского НАМН Украины»,
г. Харьков, Украина;

³ Харьковская государственная академия физической культуры, г. Харьков, Украина
antipowaraja@i.ua

Вступление. На сегодня остается актуальной задачей поиск причин снижения фертильности мужчин. Одной из них может быть несбалансированность питания по таким нутриентам как полиненасыщенные жирные кислоты (омега-3 и омега-6), которые являются основной составляющей подсолнечного масла.

Цель работы — установить последствия хронического и чрезмерного потребления рафинированного подсолнечного масла для гормонального состояния и репродуктивной функции у половозрелых самцов крыс.

Результаты. У экспериментальных 7-ми месячных самцов крыс дополнение стандартного рациона рафинированным подсолнечным маслом в дозе 3 г/кг (превышение нормы жиров в 1,5 раза) в течение 75 суток привело к андрогенному дефициту (снижению содержания свободного и общего тестостерона), гиперэстрогении, нарушению физиологического соотношения половых гормонов. Гормональные нарушения сопровождались дефектами сперматогенеза: снижением общей концентрации гамет, морфологически нормальных форм, повышением процента количества патологических форм.

Ключевые слова: мужская гипофертильность, подсолнечное масло, сперматогенез, половые гормоны.

HORMONAL AND REPRODUCTIVE DISORDERS IN MALE RATS DUE TO EXCESSIVE CONSUMPTION OF REFINED SUNFLOWER OIL

R. B. Antipova¹, T. E. Komisova¹, N. F. Velichko², A. Ye. Sak³

¹ Kharkiv National Pedagogical University. GS Skovoroda, Kharkiv, Ukraine;

² SI «V. Danilevsky Institute for Endocrine Pathology Problems
National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Kharkiv, Ukraine;

³ Kharkiv State Academy of Physical Culture, Kharkiv, Ukraine
antipowaraja@i.ua

Introduction. Today, the search for reasons to reduce male fertility remains an urgent task. One of them may be an imbalance in nutrition for nutrients such as polyunsaturated fatty acids (omega-3 and omega-6), which is the main component of sunflower oil. The interaction of omega-3 and omega-6 fatty acids and their lipid mediators is a complex and still not fully understood process. However, the relationship between omega-6 and omega-3 acids during perinatal development is known to affect metabolic parameters in adulthood, especially in males. Sunflower oil is unbalanced in terms of omega-3 and omega-6 fatty acids. Moreover, the content of omega-6 in the oil significantly exceeds the concentration of omega-3. It should be noted that the lack of omega-3 in the body leads to roughening of the membranes of all cells, including sperm. This negatively affects the fertilizing ability of gametes, and with successful fertilization — on the viability of embryos. Therefore, the benefits and safety of excessive and chronic consumption of sunflower oil, especially for males, is open.

The **aim** of the study was to establish the effects of chronic and excessive consumption of refined sunflower oil for hormonal status and reproductive function in adult male rats.

Results. In experimental 7-month-old male rats, supplementation of the standard diet with refined sunflower oil at a dose of 3 g/kg body weight (excess fat by 1.5 times) for 75 days led to androgen deficiency (decreased free and total testosterone), hyperestrogenism, disorders physiological ratio of sex hormones. Hormonal disorders were accompanied by defects in spermatogenesis: a decrease in the total concentration of gametes, morphologically normal forms, an increase in pathological forms.

Key words: male hypofertility, sunflower oil, spermatogenesis, sex hormones.